



**FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2011/2012

Miguel Eduardo Teixeira Moz Gonçalves
Catecolaminas, stresse e cancro

março, 2012

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Miguel Eduardo Teixeira Moz Gonçalves
Catecolaminas, stresse e cancro

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Bioquímica

Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Prof. Doutora Laura Ribeiro

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Arquivos de Medicina

março, 2012

FMUP

Eu, Miguel Eduardo Teixeira Moz Gonçalves, abaixo assinado, nº mecanográfico 060801094, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, ____/____/____

Assinatura: _____

Nome: Miguel Eduardo Teixeira Moz Gonçalves

Endereço eletrónico: miguel88moz@gmail.com **Telefone ou Telemóvel:** 938169454

Número do Bilhete de Identidade: 13089521

Título da ~~Dissertação~~/Monografia (cortar o que não interessa):

Catecolaminas, stress e cancro

Orientador:

Professora Doutora Laura Ribeiro

Ano de conclusão: 2012

Designação da área do projeto:

Bioquímica

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, ____/____/____

Assinatura: _____

CATECOLAMINAS, STRESSE E CANCRO
CATECHOLAMINES, STRESS AND CANCER

CATECOLAMINAS E CANCRO
CATECHOLAMINES AND CANCER

Artigo de Revisão

Miguel Eduardo Teixeira Moz Gonçalves

Aluno do 6º ano do Mestrado Integrado da Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Contacto:

Rua Professor Doutor Mota Pinto, nº 22, R/C e 1º, 5300-437, Bragança

Tlf: 938169454

e-mail: miguel88moz@gmail.com

Agradecimentos:

Agradeço o apoio, paciência e disponibilidade da Professora Doutora Laura Ribeiro, que muito contribuiu para este trabalho.

Número de palavras

Resumo: 223

Abstract: 192

Texto principal: 4988

Resumo

Na sociedade atual, o stresse é um dos principais fatores responsáveis pela perda de qualidade de vida a que se associa um aumento do risco de doenças metabólicas, cardiovasculares, psiquiátricas, reprodutivas, autoimunes e gastrointestinais.

O cancro é uma patologia de importância crescente, sendo uma das principais causas de morte em todo o mundo. Vários estudos epidemiológicos revelam que o stresse pode aumentar a incidência de cancro e agravar o seu prognóstico.

A resposta ao stresse ativa uma série de sistemas neuro-endócrinos que, através de vários mecanismos, parece promover o aparecimento e a agressividade dos tumores.

As catecolaminas, mediadores cruciais da resposta ao stresse, parecem ser o elo de ligação entre o stresse e o cancro. De facto, as catecolaminas através da ligação a recetores adrenérgicos expressos em células tumorais promovem a expressão de um fenótipo tumoral mais agressivo, ao aumentar a proliferação, angiogénese, capacidade de invasão e a metastização dos tumores.

Por outro lado, o stresse atua como inibidor de determinadas funções imunológicas responsáveis pela deteção e eliminação de células tumorais, podendo contribuir dessa forma para o desenvolvimento de novos tumores e progressão de outros já existentes.

A importância crescente do cancro como problema de saúde pública justifica a procura de novas abordagens terapêuticas, podendo ser equacionada no futuro a utilização de fármacos que antagonizam as ações das catecolaminas no tratamento desta patologia.

Palavras-chave: Stresse; Sistema Neuro-endócrino; Catecolaminas; Bloqueadores β ;
Cancro

Abstract

In today's society, stress is a major determinant of quality of life loss that is associated with an increased risk of metabolic, cardiovascular, psychiatric, reproductive, autoimmune and gastrointestinal diseases.

Cancer is a disease of increasing importance, being a major cause of death worldwide. Several epidemiological studies show that stress can increase the incidence of cancer and worsen its prognosis.

Stress response is able to activate several neuro-endocrine systems that, by several mechanisms, seem to promote the development and aggressiveness of tumors.

Catecholamines, crucial mediators of the stress response, might be the link between stress and cancer. In fact, catecholamines, through binding to adrenergic receptors expressed in tumor cells, promote the expression of a more aggressive tumor phenotype, by increasing the proliferation, angiogenesis, invasiveness and metastasis of tumors.

On the other hand, stress acts as an inhibitor of certain immune functions responsible for the detection and destruction of tumor cells, contributing by this way to the development of new tumors and progression of existing ones.

The increasing importance of cancer as a public health problem justifies the search for new therapeutic approaches such as is the case of drugs which antagonize catecholamine actions.

Key-words: Stress; Neuroendocrine System; Catecholamines; β -Blockers; Cancer

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	5
INTRODUÇÃO	7
STRESSE E SISTEMAS ALOSTÁTICOS.....	9
PAPEL DAS CATECOLAMINAS NA PATOGENESE DO CANCRO	12
PAPEL DAS CATECOLAMINAS NA PROLIFERAÇÃO E INIBIÇÃO DA APOPTOSE	12
PAPEL DAS CATECOLAMINAS NA INVASÃO E MIGRAÇÃO.....	15
PAPEL DAS CATECOLAMINAS NA ANGIOGÊNESE	17
MODELOS ANIMAIS DE STRESSE E CANCRO.....	19
PSICONEUROIMUNOLOGIA E CANCRO.....	22
RECEPTORES ADRENÉREGICOS, BLOQUEADORES BETA E CANCRO	25
CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

LISTA DE ABREVIATURAS

AD - Adrenalina

AMPc - *Adenosine Monophosphate Cyclic* (Adenosina monofosfato cíclico)

AP-1 - *Activator Protein 1* (Proteína ativadora 1)

BAD - *Bcl-2-Associated Death Promoter* (Promotor da morte celular associada a Bcl-2)

BB - Bloqueadores β

CA - Catecolaminas

CREB - *cAMP Response Element-binding* (Proteína com capacidade de ligação a elemento de resposta ao AMPc)

EGFR - *Epidermal Growth Factor Receptor* (Recetor para o fator de crescimento epidérmico)

EHHS - Eixo Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenal

FAK - *Focal Adhesion Kinase* (Cinase de adesão focal)

FosB - *FBJ Murine Osteosarcoma Viral Oncogene Homolog B*

Gi - Proteína G Inibitória

Gs - Proteína G Estimulatória

HER2 - *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2* (Recetor 2 para o fator de crescimento epidérmico humano)

IL - Interleucina

INF- γ - Interferão- γ

MAPKS - *Mitogen-Activated Protein Kinases* (Proteínas cinases ativadas por mitogénios)

MMP- Metaloproteinases

NA - Noradrenalina

NK - Natural Killer Cells

NNK - 4-(metil-nitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona

PI3K - *Phosphoinositide 3-Kinase* (Cínase do fosfatidilinositol 3)

PKA - *Protein Kinase A* (Proteína cínase A)

RA - Recetores Adrenérgicos

SAM - Sistema Simpato-Adrenomedular

SNC - Sistema Nervoso Central

SNS - Sistema Nervoso Simpático

Src - *Transforming Gene of Rous Sarcoma Virus* (Proteína transformadora do vírus de sarcoma de Rous)

STAT3 - *Signal Transducer and Activator of Transcription* (Transdutor e ativador da transcrição do sinal 3)

VEGF - *Vascular Endothelial Growth Factor* (Fator de crescimento endotelial vascular)

TNF- α - *Tumor Necrosis Factor α* (Fator de necrose tumoral)

INTRODUÇÃO

O stresse é atualmente reconhecido como um dos fatores envolvidos no aumento da incidência de patologias de importância crescente, como sejam as doenças metabólicas, cardiovasculares, psiquiátricas, reprodutivas, autoimunes e gastrointestinais (1,2).

O cancro é uma das principais causas de morte em todo o mundo e a sua incidência está a aumentar (3).

Nos últimos anos, a relação entre stresse e cancro tem sido largamente estudada. Os estudos epidemiológicos que têm estudado esta relação apresentam resultados contraditórios, com alguns a revelarem que o stresse aumenta o risco de cancro e a mortalidade (4), contrariamente a outros que não encontram esta associação (5).

De facto, enquanto alguns estudos não encontram associação entre stresse e a incidência da doença (7,8) ou agravamento do seu prognóstico (9), outros mostram um aumento do risco (10,11), agravamento do prognóstico, diminuição do tempo de recorrência (12,13) e da sobrevida (13). Alguns autores mostraram que o stresse de grande intensidade diminui a incidência de cancro (14,15), particularmente em mulheres sujeitas a terapêutica hormonal de substituição (15), enquanto outros descreveram que apenas a associação entre stresse intenso e falta de apoio emocional se associa ao aumento do risco de cancro da mama (16). Uma meta-análise revelou que algumas categorias de stresse intenso aumentam o risco deste tipo de cancro (6). Em doentes com melanoma o stresse induzido pela insegurança financeira está associado a um aumento das recidivas (17).

Uma meta análise recente (18), que avaliou a relação entre o stresse e vários tipos de cancro, concluiu que os estudos são bastante heterogêneos e apresentam frequentemente limitações metodológicas importantes, nomeadamente uma avaliação incompleta dos fatores que geram stresse, não inclusão de fatores confundidores, diferentes

métodos de classificação da intensidade e impacto do stresse, tempo de *follow-up* insuficiente nos estudos prospetivos, entre outros. Apesar das limitações de alguns dos estudos analisados, esta meta-análise revelou que o stresse psicológico aumenta a incidência de cancro e a sua mortalidade, diminuindo a sobrevida, sendo a associação mais expressiva nos estudos de maior dimensão e com maior tempo de *follow-up*.

No estudo da associação entre o stresse psicológico e o cancro, a variabilidade de resultados deve-se, muitas vezes, à dificuldade em avaliar a resposta gerada por um evento negativo no equilíbrio psicobiológico do indivíduo. De facto, a maioria dos estudos utiliza instrumentos subjetivos, nomeadamente questionários estruturados e entrevistas, que avaliam o número e intensidade de episódios de stresse (9). Tendo em conta a complexidade da resposta ao stresse, os resultados obtidos através destes instrumentos, deviam ser complementados com parâmetros biológicos de stresse, como os valores plasmáticos das hormonas de stresse, adrenalina (AD), noradrenalina (NA) e cortisol, que possibilitassem objetivamente determinar se existe ou não associação com o cancro (9). De facto, em doentes com cancro da mama verificou-se a existência de alterações imunológicas e um aumento das hormonas de stresse, nas doentes que desenvolveram recorrência (19). Em tumores ováricos verificou-se que, apesar das concentrações plasmáticas de NA serem semelhantes nos vários estádios, os tumores mais avançados e de alto grau histológico têm concentrações mais elevadas desta amina (20,21). Por outro lado, os níveis elevados de NA no tecido tumoral não se correlacionam com o nível de stresse percecionado (21).

Contrariamente à inconsistência dos resultados dos estudos epidemiológicos, os modelos animais têm revelado maior uniformidade (22). A maioria destes estudos mostra que o stresse aumenta o risco de desenvolvimento de cancro, promove a sua agressividade e capacidade de metastização, através da ação dos mediadores da resposta ao stresse, diretamente nas células tumorais, em células do estroma e pela modulação do sistema imunológico (23,24,25,26,27).

STRESSE E SISTEMAS ALOSTÁTICOS

A homeostasia pode ser definida como um estado de equilíbrio dinâmico complexo que permite a existência e manutenção da vida. Neste contexto, o stresse pode ser entendido como um estado de ameaça ou percepção de ameaça à homeostasia originada por um stressor. Este é responsável pela ativação da resposta ao stresse que compreende um conjunto de alterações neuroendócrinas e comportamentais, sendo estas também determinadas por polimorfismos genéticos, alteração da expressão genética e fatores ambientais (28,29).

A alostase, por sua vez, é um processo através do qual o organismo mantém a estabilidade fisiológica variando parâmetros do meio interno de forma a adequá-los às exigências do ambiente (30). A alostase compreende também todas as variações hormonais, fisiológicas e comportamentais que permitem a adaptação a modificações físicas, psicológicas, fisiológicas ou sociais que originem stresse (30,31).

Os mediadores primários da resposta ao stresse permitem a adaptação do organismo perante um stressor, causando todavia danos se a intensidade ou a duração desta resposta forem excessivos. Nestes casos, os sistemas biológicos subsidiários modificam o seu funcionamento conduzindo a alterações cardiovasculares, metabólicas e imunológicas, sendo que a sua desregulação constitui a chamada sobrecarga alostática, processo envolvido no envelhecimento e em várias patologias (30,31).

Neste âmbito, a avaliação dos mediadores primários da resposta ao stresse, e dos seus efeitos, permite o desenvolvimento de modelos que possibilitam a identificação de indivíduos com maior risco de declínio cognitivo, físico e de mortalidade (32,33,34), sendo que os parâmetros com maior capacidade preditiva parecem variar consoante a população (35).

A resposta fisiológica ao stresse, compreende um conjunto de subsistemas responsáveis pela receção e integração de informação de origens diversas, nomeadamente cognitiva, emocional, neurosensorial e somática, iniciando posteriormente uma série de alterações comportamentais, como o aumento do nível de alerta e cognição, e diminuição da nocicepção, apetite e reprodução. Por outro lado, promove alterações fisiológicas como a redistribuição do sangue para órgãos efetores como o sistema nervoso central (SNC) e músculo estriado, aumento da frequência cardíaca e respiratória e metabolismo intermediário (gliconeogénese e lipólise), e inibição do crescimento e da função imunológica (29,36).

Esta resposta global e inespecífica constitui a síndrome de resposta ao stresse que corresponde à ativação de vários sistemas alostáticos em resposta a um stressor de grande intensidade. Atualmente, reconhece-se que cada stressor ativa preferencialmente alguns eixos neuroendócrinos criando um padrão de resposta específico e mais adaptativo, sendo gerado pela integração de toda a informação disponível nos centros cerebrais superiores (hipotálamo, sistema límbico e córtex cerebral) (37).

A resposta neuro-endócrina ao stresse compreende o sistema simpato-adrenomedular (SAM) cujos medidores principais são as catecolaminas (CA), AD e NA, e o eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal (EHHS) cujo mediador final é o cortisol (36,37).

O SAM é formado pelo sistema nervoso simpático (SNS) e pela medula da suprarrenal. O primeiro encontra-se organizado num componente central, o neurónio pré-ganglionar, localizado na medula espinhal. O componente periférico, o neurónio pós-ganglionar, situa-se nos gânglios simpáticos, é ativado pelo neurónio pré-ganglionar e atua diretamente nas estruturas e órgãos alvo através da libertação da NA. O componente central também inerva a medula da suprarrenal com libertação de CA, sobretudo AD, diretamente na corrente sanguínea, que, juntamente com a NA, tem efeitos sistémicos (36,37,38).

A área responsável pela integração da informação gerada pelos stressores é o hipotálamo pois recebe aferências sensoriais periféricas, dos centros catecolaminérgicos e

dos centros superiores direta e indiretamente. Além disso, o hipotálamo é a estrutura responsável pelo desencadear da resposta ao stress já que ativa o EHHS e os neurónios pré-ganglionares do SAM diretamente e via sistema catecolaminérgico central (36,37).

Os efeitos fisiológicos exercidos pelas CA são mediados por recetores adrenérgicos (RA), tendo sido identificados nove subtipos diferentes, organizados em dois grupos, os RA- α e RA- β . Os RA- α subdividem-se em α_1 com três subtipos α_{1A} , α_{1B} e α_{1D} e α_2 com três subtipos, α_{2A} , α_{2B} e α_{2C} . Os RA β são classificados em três subtipos, β_1 , β_2 e β_3 (39).

Os RA são membros da família dos recetores acoplados a proteínas G, com os RA β acoplados preferencialmente a proteínas G estimulatórias (Gs), que promovem o aumento da atividade da ciclase do adenilato e do monofosfato de adenosina cíclico (AMPc), os RA α_2 , associados a proteínas G inibitórias (Gi) com efeitos opostos aos descritos anteriormente, e os RA α_1 , acoplados a proteínas Gq, que promovem a ativação de fosfolípases (39).

PAPEL DAS CATECOLAMINAS NA PATOGENESE DO CANCRO

Atualmente considera-se que o cancro não resulta exclusivamente da hiperproliferação de um clone de células malignas, mas também da influência do seu micro-ambiente e do sistema neuro-endócrino. Estes dois fatores podem ser responsáveis pela aquisição ou promoção de diversas características essenciais para a progressão dos tumores (23,24,26).

Globalmente estão identificadas oito características que permitem a evolução do cancro, nomeadamente, a hiperproliferação e evasão a mecanismos que a contrariem, inibição da apoptose, promoção da angiogénese, a imortalidade das células tumorais, mecanismos de promoção de invasão dos tecidos adjacentes e de metastização à distância, fuga à destruição pelo sistema imunitário e desregulação do metabolismo energético (40). Além disso, a instabilidade genética e a inflamação são igualmente mecanismos facilitadores do desenvolvimento do fenótipo tumoral (40).

Atualmente existem inúmeros estudos que evidenciam o papel das CA na modulação de muitos destes mecanismos essenciais para a iniciação e progressão dos tumores (26). De notar que estas aminas, num modelo *in vitro*, aumentam os danos causados no ADN, diminuindo a sua capacidade de reparação, parecendo assim alterar a estabilidade genética e aumentar a transformação de células benignas (41).

Papel das catecolaminas na proliferação e inibição da apoptose

A capacidade de manutenção da proliferação e inibição de vias pró-apoptóticas são atributos fundamentais das células malignas. Estes advêm das suas características

genéticas, e podem ser modulados por mecanismos parácrinos e endócrinos que promovem o crescimento tumoral (40).

Os agonistas adrenérgicos através da sua ligação a RA β e da transativação de recetores da família do recetor para o fator de crescimento epidérmico (EGFR), um recetor com propriedades oncogénicas, ativam as vias do ácido araquidónico e das proteínas cínases ativadas por mitogénios (MAPKS) que promovem a proliferação de vários tipos de carcinomas, nomeadamente do esófago (42,43), cólon (44,45), estômago (46,47), pulmão (48,49) e pâncreas (50,51).

O tabaco é um dos principais fatores de risco para estes tumores, sendo que alguns dos seus produtos, como a nicotina e o 4-(metil-nitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), estimulam a proliferação das células malignas através de dois mecanismos distintos: atuando como agonistas parciais dos RA β ou como agonistas de recetores nicotínicos, causando um aumento da síntese e libertação de CA e da expressão de RA (52, 53). Em modelos *in vivo* com tumores do pulmão e pâncreas, gerados por ação do NNK, verificou-se um aumento das concentrações plasmáticas de CA, assim como da expressão de fatores de transcrição associados à ativação de RA e do EGFR (52).

Demonstrou-se também que a nicotina aumenta a dimensão de tumores induzidos pela inoculação de células malignas de cólon e pâncreas, sendo que esta ação depende da ativação de RA e do EGFR, e do aumento dos níveis de CA no plasma e nos tumores (44,50,54).

Em células malignas de esófago verifica-se que a ação mitogénica dependente do EGFR é mediada pela transativação dos RA β_2 , sendo que a expressão destes recetores, bem como a síntese de CA, se encontram aumentados por ação do EGFR (42,43).

Em células malignas de mama verificou-se que a expressão do recetor 2 para o fator de crescimento epidérmico humano (HER2), um membro da família do EGFR, estabelece um ciclo de estimulação recíproca com os RA β_2 . De facto, a estimulação do HER2 aumenta a síntese de CA e a expressão de RA nas células tumorais (55). Por outro lado, a

estimulação de RA β_2 aumenta a proliferação das células, promove a sua própria expressão e a do HER2, através da ação do fator de transcrição transdutor e ativador da transcrição do sinal 3 (STAT3) (55). A análise de adenocarcinomas da mama confirmou também a associação entre a expressão de HER2 e de RA β_2 (55).

Noutras linhas celulares malignas de mama verificou-se que os agonistas adrenérgicos β_2 através da via AMPc/proteína cínase A (PKA) atuam como inibidores da via das MAPKS, aumentando a apoptose e diminuindo o crescimento destas células (56,57).

O papel dos RA α_2 foi também analisado em células malignas de mama tendo-se verificado que a sua ativação aumenta a proliferação (58). Um estudo *in vivo*, com tumores mamários de Ratinho, mostrou que os agonistas α_2 aumentam a proliferação das células e da massa tumoral (59). Curiosamente, outros autores neste modelo de células de mama não confirmaram o aumento da proliferação pela ativação de RA β (60).

Em células malignas de ovário (61,62), próstata (63) e melanoma (64) as CA não apresentam efeitos proliferativos, no entanto no caso do cancro da próstata os resultados são contraditórios (63,65). Os agonistas adrenérgicos β_2 inibem o crescimento de tumores *in vivo*, verificando-se que o seu crescimento é tanto maior quanto menor for a expressão celular destes recetores (65). A expressão dos RA β_2 associa-se a um fenótipo benigno das células, sendo que as células com características mais agressivas apresentam menor expressão destes recetores (65). Por outro lado, também em células malignas de próstata e mama a AD por ativação dos RA β_2 inibe a apoptose por inativação da proteína pró-apoptótica promotora de morte celular associada à *Bcl-2* (linfoma 2 das células beta) (BAD) (66). Este efeito parece também depender da transativação de recetores dos androgénios, que atuam sinergicamente com os RA β_2 promovendo a resistência aos tratamentos (67).

Em ratinhos com ascite maligna submetidos a stresse, as CA inibem a apoptose resultante da perda das junções intercelulares ou da ligação à matriz extra-celular (68). Este efeito, mediado por RA β_2 , deve-se ao aumento da expressão de proteínas envolvidas na adesão e promoção da sobrevivência celular, a proteína cinase transformadora do vírus de

sarcoma de Roux (Src) e a proteína cínase de adesão focal (FAK). Verificou-se que a expressão desta última proteína em tumores ováricos se associa a maiores níveis de NA no tumor e a um pior prognóstico (68).

Papel das catecolaminas na invasão e migração

A capacidade de migração e invasão de tecidos adjacentes são características essenciais na patogénese do cancro. Pensa-se que estes processos envolvem a ativação de um programa designado por transição epitelial-mesenquimatosa, no qual as células adquirem características como o aumento da mobilidade, resistência à apoptose, perda de junções intercelulares e da morfologia epitelíóide, e produção de metaloproteinases (MMP), que degradam a matriz extracelular, permitindo a invasão e disseminação de células malignas (40). Estes atributos não dependem exclusivamente de alterações genéticas das células, sendo modulados pelo micro-ambiente do tumor (40) e também por mediadores como as CA (69,70). Estas aminas induzem a produção de MMP em células de carcinoma nasofaríngeo (71), do ovário (61,62,72) e estômago (73) promovendo a sua capacidade de invasão *in vitro*. Está igualmente descrito que aumentam ou diminuem a migração de células malignas, respetivamente de cólon (74) e de ovário (75).

O stresse aumenta a expressão de MMP e a formação de metástases de tumores gerados no ovário *in vivo* (61,71) Estes efeitos dependem da ligação das CA aos RA β , com ativação de uma via intracelular dependente da PKA e do fator de transcrição STAT3 (61,71). De acordo com estes dados, noutra modelo de tumores ováricos a ativação adrenérgica do tipo β aumentou a dimensão e a proporção de tumores com sinais de invasão (61,71).

As ações das CA em células malignas de próstata são complexas e podem mesmo ser antagónicas, dependendo da linha celular. Alguns autores descrevem que as CA

promovem a migração das células através do aumento da expressão da integrina alfa2 por ativação dos RA β_2 e do fator de transcrição *cAMP response element-binding* (CREB) (63,76). A administração de NA *in vivo* aumenta a agressividade das células, com aumento da formação de metástases, sem contudo ter impacto direto no crescimento do tumor primário (63). Por outro lado, a expressão dos RA β_2 está associada a um fenótipo benigno em células de próstata, sendo que é a sua inibição que promove a agressividade das células, aumentando a sua capacidade de invasão e migração *in vitro* (65).

A metastização não é um processo aleatório de disseminação de células malignas, pelo contrário existem padrões característicos de metastização para cada tipo de tumor (40). Neste âmbito, as CA favorecem a migração (60,70,76,77), a diminuição da síntese de proteínas que inibem a formação de metástases (76) e a diminuição da capacidade de adesão das células à matriz *in vitro*, mas também produzem quimiotaxia em células malignas de mama, favorecendo assim o desenvolvimento de metástases em locais com maiores concentrações de CA (70). O stresse crónico aumenta a inervação do SNS nos gânglios linfáticos, um dos locais preferenciais de metastização do carcinoma da mama (70,78).

A expressão dos RA β_2 está associada ao processo de quimiotaxia sendo maior no polo da célula orientada no sentido da migração, que depende da ação das cínases do fosfatidilinositol 3 (PI3K) e Akt (77).

A N-caderina, cuja expressão se encontra aumentada em tumores malignos, é uma molécula promotora da migração. A NA aumenta a migração de células malignas de mama e este efeito depende da ação da N-caderina (79). Em células benignas de próstata a inibição dos RA β_2 induz a expressão de N-caderina tornando o seu fenótipo mais agressivo (65).

Papel das catecolaminas na angiogénese

A angiogénese, o processo de formação de novos vasos sanguíneos, permite aos tumores suprir as suas crescentes necessidades de nutrientes e oxigénio permitindo também o acesso de células malignas à circulação com a sua consequente disseminação e formação de metástases (40). As CA parecem facilitar o desenvolvimento deste processo (80).

A angiogénese é promovida por ação de vários mediadores, sendo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) o mais relevante. A sua expressão é aumentada em situações de hipoxia, por oncogenes e pelo micro-ambiente (40).

Em linhas celulares malignas de ovário (81) e de esófago (43) as CA induzem a síntese de VEGF predominantemente através da ligação a RA β_2 .

Em células malignas de mama e próstata verificou-se que o aumento da síntese de VEGF depende da ação do fator de indução de hipoxia 1- α (HIF-1 α) por ativação de RA pelas CA. Também se demonstrou que o aumento da produção de VEGF é suficiente para estimular a angiogénese *in vitro* (82).

Em células de carcinoma nasofaríngeo, a NA também aumenta a síntese de VEGF, promovendo a angiogénese *in vitro*, contudo o bloqueio dos recetores de VEGF não aboliu por completo este efeito, sugerindo assim a existência de outros fatores pró-angiogénicos mediados pelas CA (71).

Estas aminas também promovem a angiogénese por mecanismos indiretos. Em células malignas de ovário, as CA aumentam a expressão de Interleucina-6 (IL-6), uma citocina que promove a angiogénese, através da ativação de RA β e da cínase Src (83). Por outro lado, verificou-se que as MMP induzidas pelas CA promovem a síntese de VEGF (72, 84). Finalmente demonstrou-se um aumento da angiogénese através destes mecanismos em modelos *in vitro* e a promoção do crescimento de tumores em modelos animais (83,84).

Em várias linhas celulares de melanoma obtiveram-se resultados semelhantes aos descritos, pois a NA, atuando através da ligação a RA β e via AMPc/PKA, aumentou a síntese de VEGF e a síntese de IL-6 (64). Em relação ao efeito das CA em células mamárias verificou-se que a estimulação de RA β_2 em duas linhas celulares isoladas a partir do mesmo tumor pode ter efeitos contrários na produção de VEGF, apesar de em ambas as linhas se verificar um aumento da síntese de IL-6 (60).

MODELOS ANIMAIS DE STRESSE E CANCRO

A relação entre o stresse e a progressão do cancro tem sido estudada recorrendo a diversos modelos animais, tendo-se demonstrado que as alterações neuro-endócrinas decorrentes do stresse afetam as células malignas e o microambiente do tumor, promovendo a sua progressão (24,26).

A utilização de um modelo de stresse baseado na densidade populacional mostrou que o crescimento de tumores, resultantes da injeção subcutânea de células malignas de melanoma e fibrossarcoma, é maior em condições de sobrelotação (stressor de maior intensidade) em comparação com o isolamento (stressor de intensidade intermédia) e deste em relação a ausência de stresse (85). Estes efeitos parecem ocorrer pela ação das CA por ativação dos RA β , uma vez que o cortisol não apresenta qualquer efeito no crescimento tumoral (85).

Ratinhos com suscetibilidade genética para o desenvolvimento espontâneo de tumores mamários, quando sujeitos a isolamento social, apresentaram um aumento da incidência, dimensão e número de tumores malignos (86). Noutro modelo *in vivo*, o isolamento social não aumentou a incidência ou metastização de tumores mamários malignos, contudo originou tumores de maiores dimensões, maior agressividade, com aumento da expressão de enzimas do metabolismo celular (glicólise e lipogénese) associadas à reprogramação do metabolismo energético (87). Múltiplas evidências sugerem que o isolamento social aumenta a intensidade de resposta ao stresse, e que os efeitos descritos dependem provavelmente da ação das CA (36).

Taker et al. (88) mostrou que a imobilização e o isolamento social (dois modelos experimentais de stresse), através da libertação de CA, promovem o crescimento, o número e metastização de tumores produzidos por injeção subcutânea ou intra-peritoneal de células

tumorais humanas de mama e ovário. Estes autores, através de estudos farmacológicos e genéticos, descreveram que as CA atuando nos RA β_2 aumentam a expressão de mediadores que promovem a angiogénese conduzindo assim à progressão tumoral (88). Estes dados foram complementados recentemente com a caracterização das vias intracelulares envolvidas nestes efeitos (62). As CA atuando nos RA β_2 ativam a via AMPc/PKA, e consequentemente o *FBJ murine osteosarcoma viral oncogene homolog B* (FosB), um fator de transcrição pertencente ao complexo proteína ativadora 1 (AP1), que, por sua vez, aumenta a expressão de Interleucina-8 (IL-8), responsável pelo desenvolvimento de tumores de maior dimensão, maior capacidade de invasão, angiogénese e metastização à distância (62). Por outro lado, outros autores reportaram, no mesmo modelo celular de mama, que a ativação β_2 inibe o crescimento do tumor diminuindo o seu volume, revelando que a estimulação dos mesmos recetores *in vitro* e *in vivo* pode originar efeitos diferentes (57).

A relevância do papel desempenhado pelo micro-ambiente tumoral foi comprovada num estudo em animais submetidos a stresse por imobilização (89). A injeção de células malignas de mama na glândula mamária, ou diretamente na corrente sanguínea, revelou que, apesar de em ambas as situações se verificar um aumento do número e massa das metástases, esse aumento é dez vezes maior no modelo em que há formação de um tumor primário na mama, sem que haja, curiosamente, qualquer impacto do stresse no seu volume (89).

A existência de um tumor primário favorece a metastização, verificando-se que o stresse aumenta a infiltração de macrófagos no estroma do tumor e promove, por ação das CA, a produção de fatores, como o VEGF e as MMPs, que potenciam a formação de metástases. Neste caso, os macrófagos têm um papel chave na promoção da metastização por efeito direto das CA nos RA β_2 expressos nestas células, independentemente da resposta imunológica (89). De facto, verifica-se que em doentes com tumores ováricos

malignos a expressão de MMP9 nos macrófagos encontra-se aumentada em doentes sujeitas a maiores níveis de stresse (90).

Utilizando a cirurgia como modelo de stresse, demonstrou-se, para dois tipos diferentes de cirurgia, o aumento da proliferação celular, angiogénese e dimensão de tumores obtidos por injeção intra-peritoneal de células. Estes efeitos são mediados por RA β e independentes da resposta imunitária, uma vez que foram utilizados ratinhos atímicos (91).

PSICONEUROIMUNOLOGIA E CANCRO

O sistema neuro-endócrino e o sistema imunológico constituem dois sistemas alostáticos envolvidos na resposta ao stresse. As CA atuam em RA expressos em células imunológicas, alterando a sua ação e a produção de mediadores inflamatórios, podendo estimular mecanismos que permitam a progressão tumoral (92).

A resposta imunitária de tipo celular é responsável pela deteção e eliminação de células atípicas, tais como células malignas, por citotoxicidade, processo que se encontra inibido por ação das CA (93). Esta resposta depende da ação de linfócitos Th1 e da ação de mediadores como as Interleucinas-2 (IL-2) e 12 (IL-12) e o Interferão- γ (INF- γ). As células efectoras da citotoxicidade são linfócitos T citotóxicos e células *Natural Killer* (NK), ocorrendo um aumento da incidência de tumores quando há um défice da sua função (92,93).

A AD atuando nos RA β_2 inibe a síntese de IL-12 e do fator de necrose tumoral- α (TNF- α) em monócitos, existindo uma associação negativa entre os níveis plasmáticos destas citocinas e os níveis desta amina (94).

Um estudo realizado em filhas de doentes com cancro da mama, que apresentam níveis elevados de stresse e de CA na urina, revelou uma diminuição dos níveis de IL-2, IL-12 e INF- γ bem como da ativação das células NK, sendo que os níveis urinários de CA tiveram um efeito preditivo para estes défices imunológicos (95). O stresse crónico e a consequente libertação de CA parecem assim estar associados a uma diminuição da imunidade celular (95).

Em doentes com tumores ováricos verificou-se uma maior citotoxicidade dos linfócitos presentes nos tumores benignos, comparativamente aos malignos. Curiosamente, níveis mais elevados de stresse parecem estar associados a uma menor citotoxicidade das

células presentes nos tumores, e, pelo contrário, níveis mais baixos de stresse aumentam a atividade das células imunológicas (96).

Num modelo *in vivo* com inoculação de células leucémicas, o stresse ou a administração de AD, diminui a sobrevida sendo que este efeito depende sobretudo da ativação dos RA β . Este resultado pode, pelo menos em parte, ser explicado pela ação das CA na imunidade celular, i.e. através da diminuição da citotoxicidade das células NK, pois as CA não influenciaram nem a proliferação celular nem a capacidade de síntese de VEGF nas células malignas (97).

A duração da exposição ao stresse é um fator importante na modulação da resposta imunitária. Ratinhos sujeitos a stresse crónico apresentaram uma maior incidência e progressão de tumores escamosos, induzidos pela exposição a radiação ultravioleta B e diminuição da sua regressão espontânea (98). Os níveis de mediadores da resposta imunológica celular e os fatores que promovem a quimiotaxia e a ativação de células T também se encontravam mais baixos (98).

Por outro lado, estes animais quando sujeitos a stresse agudo apresentaram menor número de tumores imediatamente após a exposição ao stresse. De acordo com isto, verificou-se um aumento da infiltração e da atividade de linfócitos citotóxicos na pele, assim como da IL-12 e do INF- γ , sugerindo que o stresse agudo induz uma resposta celular mais robusta, que atrasou as primeiras fases do desenvolvimento de tumores escamosos na pele (99). O stresse agudo promove a redistribuição de leucócitos, com aumento da sua infiltração na pele e diminuição noutros locais, o que poderá justificar a diminuição do surgimento de tumores na pele, mas também poderá ser responsável pelo aumento do risco de aparecimento de tumores noutros locais (99).

A remoção cirúrgica do tumor é um componente essencial do tratamento do cancro, sendo contudo um stressor de elevada intensidade. A cirurgia pode aumentar o risco de metastização devido, entre outros fatores, à imunossupressão, com diminuição dos níveis de citotoxicidade (100,101,102,103). Esta deve-se em parte à ação das CA, pois a utilização

de bloqueadores β (BB) reduz o risco de metástases (100). Em modelos animais, a associação de BB com a inibição da síntese de prostaglandinas, mediadores cujos efeitos intracelulares em células imunológicas são semelhantes aos mediados por RA, aumenta a atividade das células imunológicas com diminuição da formação de metástases e melhoria do prognóstico (102,103).

RECEPTORES ADRENÉRGICOS, BLOQUEADORES BETA E CANCRO

Os tumores malignos são atualmente considerados tecidos nos quais as células malignas constituem uma população heterogénea de células, entre outras populações que constituem o seu micro-ambiente (40). O estudo da biologia dos tumores mostra que as características do cancro não se limitam às propriedades das células malignas, mas também dos sistemas neuro-endócrino e imunológico, que podem ser responsáveis pela expressão ou potenciação de características fundamentais para a progressão tumoral (40, 26). Neste âmbito, a expressão de RA em inúmeros tumores e em células do micro-ambiente torna a sua modulação um possível alvo terapêutico a explorar (23, 104).

Em tumores mamários, a expressão de RA α_{1B} associa-se a tumores mais agressivos e com pior prognóstico clínico. Já os RA β_2 associam-se a tumores com expressão de recetores de estrogénios e com melhor prognóstico, contudo, após o tratamento hormonal com fármacos anti-estrogénicos, verifica-se um aumento da mortalidade por aumento do risco de metástases, podendo o tratamento adjuvante, nestes casos, incluir os BB (105).

Um estudo prospetivo mostrou que as doentes com cancro da mama, tratadas com BB, apresentavam uma redução da formação de metástases, de recorrência e também da mortalidade (106). Em mulheres com carcinomas da mama particularmente agressivos a utilização de BB, apesar de não aumentar a resposta ao tratamento neoadjuvante ou a sobrevida global, aumentou o tempo livre de recidiva (107).

Em doentes com cancro da mama, a avaliação dos efeitos induzidos pela ação do propranolol, um BB não seletivo, e do atenolol, um BB seletivo para os recetores β_1 , revelou que o grupo tratado com propranolol apresentou uma diminuição da mortalidade e do risco de doença avançada em 80%, quando comparado com o grupo controlo (sem BB). Este estudo também comprovou a maior relevância dos RA β_2 em estudos pré-clínicos, uma vez

que o atenolol não apresentou quaisquer benefícios (108). Na realidade, o predomínio da utilização de BB seletivos para os RA β_1 na prática clínica pode ser responsável pela ausência de efeitos, que é descrita em alguns estudos, particularmente nos casos em que não se avalia os efeitos dos BB seletivos vs os não seletivos (109), ou quando a amostra é demasiado pequena para permitir avaliar esses eventuais benefícios (110).

Em relação ao carcinoma da próstata, os efeitos promovidos pelos RA variam de acordo com o tipo de tumor, uma vez que a baixa expressão de RA β_2 agrava o prognóstico e associa-se a tumores mais avançados e metastáticos. Nestes casos, para o tratamento destes tumores sugere-se a utilização de agonistas para estes RA e não de antagonistas (65). No entanto, e de acordo com estudos pré-clínicos, o uso de BB por longos períodos de tempo reduz a incidência de cancro da próstata (111). Uma vez que continuam a surgir trabalhos que não confirmam os dados anteriores (112), são necessários mais estudos para esclarecer o papel dos RA neste tipo de cancro.

A maioria dos tumores malignos do pâncreas e do pulmão é causada pelo tabaco tendo-se verificado que os efeitos carcinogénicos promovidos pela nicotina e NNK dependem da ativação de RA e que estes efeitos foram abolidos em modelos animais com a utilização de BB (47).

CONCLUSÃO

O cancro é atualmente considerado como uma patologia dinâmica com origem em mutações genéticas que conferem às células tumorais vantagens competitivas em relação às outras células. O micro-ambiente e o sistema imunológico modulam de forma importante o comportamento destas células. Neste contexto, a libertação de CA em resposta ao stresse, e a sua ligação aos AR, parece desempenhar um papel promotor da progressão tumoral, através do aumento da agressividade das células malignas e da diminuição do controlo exercido pelo sistema imunológico, gerando consequentemente tumores de maior dimensão e com maior capacidade de metastização. A utilização de BB, fármacos seguros, pouco dispendiosos, e amplamente usados noutras patologias, poderia ser uma terapêutica complementar aos tratamentos convencionais do cancro, sendo necessário testar esta hipótese através de estudos clínicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*. 2009 Jul;5(7):374-81.
2. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol*. 2005;67:259-84.
3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*. 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.
4. Hamer M, Chida Y, Molloy GJ. Psychological distress and cancer mortality. *J Psychosom Res*. 2009 Mar;66(3):255-8.
5. Bergelt C, Prescott E, Grønbaek M, Koch U, Johansen C. Stressful life events and cancer risk. *Br J Cancer*. 2006 Dec 4;95(11):1579-81.
6. Duijts SF, Zeegers MP, Borne BV. The association between stressful life events and breast cancer risk: a meta-analysis. *Int J Cancer*. 2003 Dec 20;107(6):1023-9.
7. Surtees PG, Wainwright NW, Luben RN, Khaw KT, Bingham SA. No evidence that social stress is associated with breast cancer incidence. *Breast Cancer Res Treat*. 2010 Feb;120(1):169-74.
8. Lillberg K, Verkasalo PK, Kaprio J, Teppo L, Helenius H, Koskenvuo M. Stress of daily activities and risk of breast cancer: a prospective cohort study in Finland. *Int J Cancer*. 2001 Mar 15;91(6):888-93.
9. Maunsell E, Brisson J, Mondor M, Verreault R, Deschênes L. Stressful life events and survival after breast cancer. *Psychosom Med*. 2001 Mar-Apr;63(2):306-15.
10. Ollonen P, Lehtonen J, Eskelinen M. Stressful and adverse life experiences in patients with breast symptoms; a prospective case-control study in Kuopio, Finland. *Anticancer Res*. 2005 Jan-Feb;25(1B):531-6

11. Lillberg K, Verkasalo PK, Kaprio J, Teppo L, Helenius H, Koskenvuo M. Stressful life events and risk of breast cancer in 10,808 women: a cohort study. *Am J Epidemiol*. 2003 Mar 1;157(5):415-23.
12. Palesh O, Butler LD, Koopman C, Giese-Davis J, Carlson R, Spiegel D. Stress history and breast cancer recurrence. *J Psychosom Res*. 2007 Sep;63(3):233-9.
13. Groenvold M, Petersen MA, Idler E, Bjorner JB, Fayers PM, Mouridsen HT. Psychological distress and fatigue predicted recurrence and survival in primary breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2007 Oct;105(2):209-19.
14. Graham J, Ramirez A, Love S, Richards M, Burgess C. Stressful life experiences and risk of relapse of breast cancer: observational cohort study. *BMJ*. 2002 Jun 15;324(7351):1420.
15. Nielsen NR, Zhang ZF, Kristensen TS, Netterstrøm B, Schnohr P, Grønbaek M. Self-reported stress and risk of breast cancer: prospective cohort study. *BMJ*. 2005 Sep 10;331(7516):548.
16. Price MA, Tennant CC, Butow PN, Smith RC, Kennedy SJ, Kossoff MB, Dunn SM. The role of psychosocial factors in the development of breast carcinoma: Part II. Life event stressors, social support, defense style, and emotional control and their interactions. *Cancer*. 2001 Feb 15;91(4):686-97.
17. Beswick S, Affleck P, Elliott F, Gerry E, Boon A, Bale L, Nolan C, Barrett JH, Bertram C, Marsden J, Bishop DT, Newton-Bishop JA. Environmental risk factors for relapse of melanoma. *Eur J Cancer*. 2008 Aug;44(12):1717-25.
18. Chida Y, Hamer M, Wardle J, Steptoe A. Do stress-related psychosocial factors contribute to cancer incidence and survival? *Nat Clin Pract Oncol*. 2008 Aug;5(8):466-75.
19. Thornton LM, Andersen BL, Carson WE 3rd. Immune, endocrine, and behavioral precursors to breast cancer recurrence: a case-control analysis. *Cancer Immunol Immunother*. 2008 Oct;57(10):1471-81.

20. Lutgendorf SK, DeGeest K, Sung CY, Arevalo JM, Penedo F, Lucci J 3rd, Goodheart M, Lubaroff D, Farley DM, Sood AK, Cole SW. Depression, social support, and beta-adrenergic transcription control in human ovarian cancer. *Brain Behav Immun*. 2009 Feb;23(2):176-83.
21. Lutgendorf SK, DeGeest K, Dahmouch L, Farley D, Penedo F, Bender D, Goodheart M, Buekers TE, Mendez L, Krueger G, Clevenger L, Lubaroff DM, Sood AK, Cole SW. Social isolation is associated with elevated tumor norepinephrine in ovarian carcinoma patients. *Brain Behav Immun*. 2011 Feb;25(2):250-5.
22. Thaker PH, Lutgendorf SK, Sood AK. The neuroendocrine impact of chronic stress on cancer. *Cell Cycle*. 2007 Feb 15;6(4):430-3
23. Thaker PH, Sood AK. Neuroendocrine influences on cancer biology. *Semin Cancer Biol*. 2008 Jun;18(3):164-70.
24. Armaiz-Pena GN, Lutgendorf SK, Cole SW, Sood AK. Neuroendocrine modulation of cancer progression. *Brain Behav Immun*. 2009 Jan;23(1):10-5.
25. Gidron Y, Ronson A. Psychosocial factors, biological mediators, and cancer prognosis: a new look at an old story. *Curr Opin Oncol*. 2008 Jul;20(4):386-92.
26. Antoni MH, Lutgendorf SK, Cole SW, Dhabhar FS, Sephton SE, McDonald PG, Stefanek M, Sood AK. The influence of bio-behavioural factors on tumour biology: pathways and mechanisms. *Nat Rev Cancer*. 2006 Mar;6(3):240-8.
27. Lutgendorf SK, Sood AK, Antoni MH. Host factors and cancer progression: biobehavioral signaling pathways and interventions. *J Clin Oncol*. 2010 Sep 10;28(26):4094-9.
28. Chrousos GP Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*. 2009 Jul;5(7):374-81.
29. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol*. 2005;67:259-84.

30. McEwen BS. Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med*. 1998 Jan 15;338(3):171-9.
31. Juster RP, McEwen BS, Lupien SJ. Allostatic load biomarkers of chronic stress and impact on health and cognition. *Neurosci Biobehav Rev*. 2010 Sep;35(1):2-16.
32. Offidani E, Ruini C. Psychobiological correlates of allostatic overload in a healthy population. *Brain Behav Immun*. 2012 Feb;26(2):284-91.
33. Karlamangla AS, Singer BH, Seeman TE. Reduction in allostatic load in older adults is associated with lower all-cause mortality risk: MacArthur studies of successful aging. *Psychosom Med*. 2006 May-Jun;68(3):500-7.
34. Seeman TE, McEwen BS, Rowe JW, Singer BH. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Apr 10;98(8):4770-5.
35. Gruenewald TL, Seeman TE, Ryff CD, Karlamangla AS, Singer BH. Combinations of biomarkers predictive of later life mortality. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Sep 19;103(38):14158-63.
36. Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M. Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiol Rev*. 2009 Apr;89(2):535-606.
37. Pacák K, Palkovits M. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Endocr Rev*. 2001 Aug;22(4):502-48.
38. Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol*. 2003 Feb 28;463(1-3):235-72.
39. Insel PA. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Adrenergic receptors--evolving concepts and clinical implications. *N Engl J Med*. 1996 Feb 29;334(9):580-5.
40. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646-74.

41. Flint MS, Baum A, Chambers WH, Jenkins FJ. Induction of DNA damage, alteration of DNA repair and transcriptional activation by stress hormones. *Psychoneuroendocrinology*. 2007 Jun;32(5):470-9.
42. Liu X, Wu WK, Yu L, Li ZJ, Sung JJ, Zhang ST, Cho CH. Epidermal growth factor-induced esophageal cancer cell proliferation requires transactivation of beta-adrenoceptors. *J Pharmacol Exp Ther*. 2008 Jul;326(1):69-75.
43. Liu X, Wu WK, Yu L, Sung JJ, Srivastava G, Zhang ST, Cho CH. Epinephrine stimulates esophageal squamous-cell carcinoma cell proliferation via beta-adrenoceptor-dependent transactivation of extracellular signal-regulated kinase/cyclooxygenase-2 pathway. *J Cell Biochem*. 2008 Sep 1;105(1):53-60.
44. Wong HP, Yu L, Lam EK, Tai EK, Wu WK, Cho CH. Nicotine promotes cell proliferation via alpha7-nicotinic acetylcholine receptor and catecholamine-synthesizing enzymes-mediated pathway in human colon adenocarcinoma HT-29 cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2007 Jun 15;221(3):261-7.
45. Wu WK, Wong HP, Luo SW, Chan K, Huang FY, Hui MK, Lam EK, Shin VY, Ye YN, Yang YH, Cho CH. 4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone from cigarette smoke stimulates colon cancer growth via beta-adrenoceptors. *Cancer Res*. 2005 Jun 15;65(12):5272-7.
46. Shin VY, Wu WK, Chu KM, Koo MW, Wong HP, Lam EK, Tai EK, Cho CH. Functional role of beta-adrenergic receptors in the mitogenic action of nicotine on gastric cancer cells. *Toxicol Sci*. 2007 Mar;96(1):21-9.
47. Shin VY, Jin HC, Ng EK, Yu J, Leung WK, Cho CH, Sung JJ. Nicotine and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induce cyclooxygenase-2 activity in human gastric cancer cells: Involvement of nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) and beta-adrenergic receptor signaling pathways. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008 Dec 1;233(2):254-61.
48. Schuller HM, Tithof PK, Williams M, Plummer H 3rd. The tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone is a beta-adrenergic agonist and stimulates

DNA synthesis in lung adenocarcinoma via beta-adrenergic receptor-mediated release of arachidonic acid. *Cancer Res.* 1999 Sep 15;59(18):4510-5.

49. Laag E, Majidi M, Cekanova M, Masi T, Takahashi T, Schuller HM. NNK activates ERK1/2 and CREB/ATF-1 via beta-1-AR and EGFR signaling in human lung adenocarcinoma and small airway epithelial cells. *Int J Cancer.* 2006 Oct 1;119(7):1547-52.
50. Al-Wadei HA, Plummer HK 3rd, Schuller HM. Nicotine stimulates pancreatic cancer xenografts by systemic increase in stress neurotransmitters and suppression of the inhibitory neurotransmitter gamma-aminobutyric acid. *Carcinogenesis.* 2009 Mar;30(3):506-11.
51. Weddle DL, Tithoff P, Williams M, Schuller HM. Beta-adrenergic growth regulation of human cancer cell lines derived from pancreatic ductal carcinomas. *Carcinogenesis.* 2001 Mar;22(3):473-9.
52. Al-Wadei HA, Schuller HM. Nicotinic receptor-associated modulation of stimulatory and inhibitory neurotransmitters in NNK-induced adenocarcinoma of the lungs and pancreas. *J Pathol.* 2009 Aug;218(4):437-45.
53. Schuller HM. Mechanisms of smoking-related lung and pancreatic adenocarcinoma development. *Nat Rev Cancer.* 2002 Jun;2(6):455-63.
54. Wong HP, Yu L, Lam EK, Tai EK, Wu WK, Cho CH. Nicotine promotes colon tumor growth and angiogenesis through beta-adrenergic activation. *Toxicol Sci.* 2007 Jun;97(2):279-87.
55. Shi M, Liu D, Duan H, Qian L, Wang L, Niu L, Zhang H, Yong Z, Gong Z, Song L, Yu M, Hu M, Xia Q, Shen B, Guo N. The β 2-adrenergic receptor and Her2 comprise a positive feedback loop in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2011 Jan;125(2):351-62.
56. Slotkin TA, Zhang J, Dancel R, Garcia SJ, Willis C, Seidler FJ. Beta-adrenoceptor signaling and its control of cell replication in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2000 Mar;60(2):153-66.

57. Carie AE, Sebti SM. A chemical biology approach identifies a beta-2 adrenergic receptor agonist that causes human tumor regression by blocking the Raf-1/Mek-1/Erk1/2 pathway. *Oncogene*. 2007 May 31;26(26):3777-88.
58. Vázquez SM, Mladovan AG, Pérez C, Bruzzone A, Baldi A, Lüthy IA. Human breast cell lines exhibit functional alpha2-adrenoceptors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2006 Jul;58(1):50-61.
59. Bruzzone A, Piñero CP, Castillo LF, Sarappa MG, Rojas P, Lanari C, Lüthy IA. Alpha2-adrenoceptor action on cell proliferation and mammary tumour growth in mice. *Br J Pharmacol*. 2008 Oct;155(4):494-504.
60. Madden KS, Szpunar MJ, Brown EB. β -Adrenergic receptors (β -AR) regulate VEGF and IL-6 production by divergent pathways in high β -AR-expressing breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 Dec;130(3):747-58.
61. Landen CN Jr, Lin YG, Armaiz Pena GN, Das PD, Arevalo JM, Kamat AA, Han LY, Jennings NB, Spannuth WA, Thaker PH, Lutgendorf SK, Savary CA, Sanguino AM, Lopez-Berestein G, Cole SW, Sood AK. Neuroendocrine modulation of signal transducer and activator of transcription-3 in ovarian cancer. *Cancer Res*. 2007 Nov 1;67(21):10389-96.
62. Shahzad MM, Arevalo JM, Armaiz-Pena GN, Lu C, Stone RL, Moreno-Smith M, Nishimura M, Lee JW, Jennings NB, Bottsford-Miller J, Vivas-Mejia P, Lutgendorf SK, Lopez-Berestein G, Bar-Eli M, Cole SW, Sood AK. Stress effects on FosB- and interleukin-8 (IL8)-driven ovarian cancer growth and metastasis. *J Biol Chem*. 2010 Nov 12;285(46):35462-70.
63. Palm D, Lang K, Niggemann B, Drell TL 4th, Masur K, Zaenker KS, Entschladen F. The norepinephrine-driven metastasis development of PC-3 human prostate cancer cells in BALB/c nude mice is inhibited by beta-blockers. *Int J Cancer*. 2006 Jun 1;118(11):2744-9.
64. Yang EV, Kim SJ, Donovan EL, Chen M, Gross AC, Webster Marketon JI, Barsky SH, Glaser R. Norepinephrine upregulates VEGF, IL-8, and IL-6 expression in human melanoma tumor cell lines: implications for stress-related enhancement of tumor progression. *Brain Behav Immun*. 2009 Feb;23(2):267-75.

65. Yu J, Cao Q, Mehra R, Laxman B, Yu J, Tomlins SA, Creighton CJ, Dhanasekaran SM, Shen R, Chen G, Morris DS, Marquez VE, Shah RB, Ghosh D, Varambally S, Chinnaiyan AM. Integrative genomics analysis reveals silencing of beta-adrenergic signaling by polycomb in prostate cancer. *Cancer Cell*. 2007 Nov;12(5):419-31.
66. Sastry KS, Karpova Y, Prokopovich S, Smith AJ, Essau B, Gersappe A, Carson JP, Weber MJ, Register TC, Chen YQ, Penn RB, Kulik G. Epinephrine protects cancer cells from apoptosis via activation of cAMP-dependent protein kinase and BAD phosphorylation. *J Biol Chem*. 2007 May 11;282(19):14094-100.
67. Kasbohm EA, Guo R, Yowell CW, Bagchi G, Kelly P, Arora P, Casey PJ, Daaka Y. Androgen receptor activation by G(s) signaling in prostate cancer cells. *J Biol Chem*. 2005 Mar 25;280(12):11583-9.
68. Sood AK, Armaiz-Pena GN, Halder J, Nick AM, Stone RL, Hu W, Carroll AR, Spannuth WA, Deavers MT, Allen JK, Han LY, Kamat AA, Shahzad MM, McIntyre BW, Diaz-Montero CM, Jennings NB, Lin YG, Merritt WM, DeGeest K, Vivas-Mejia PE, Lopez-Berestein G, Schaller MD, Cole SW, Lutgendorf SK. Adrenergic modulation of focal adhesion kinase protects human ovarian cancer cells from anoikis. *J Clin Invest*. 2010 May;120(5):1515-23.
69. Entschladen F, Drell TL 4th, Lang K, Joseph J, Zaenker KS. Tumour-cell migration, invasion, and metastasis: navigation by neurotransmitters. *Lancet Oncol*. 2004 Apr;5(4):254-8.
70. Drell TL 4th, Joseph J, Lang K, Niggemann B, Zaenker KS, Entschladen F. Effects of neurotransmitters on the chemokinesis and chemotaxis of MDA-MB-468 human breast carcinoma cells. *Breast Cancer Res Treat*. 2003 Jul;80(1):63-70.
71. Yang EV, Sood AK, Chen M, Li Y, Eubank TD, Marsh CB, Jewell S, Flavahan NA, Morrison C, Yeh PE, Lemeshow S, Glaser R. Norepinephrine up-regulates the expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase (MMP)-2, and MMP-9 in nasopharyngeal carcinoma tumor cells. *Cancer Res*. 2006 Nov 1;66(21):10357-64.

72. Sood AK, Bhatta R, Kamat AA, Landen CN, Han L, Thaker PH, Li Y, Gershenson DM, Lutgendorf S, Cole SW. Stress hormone-mediated invasion of ovarian cancer cells. *Clin Cancer Res.* 2006 Jan 15;12(2):369-75.
73. Shi M, Liu D, Duan H, Han C, Wei B, Qian L, Chen C, Guo L, Hu M, Yu M, Song L, Shen B, Guo N. Catecholamine up-regulates MMP-7 expression by activating AP-1 and STAT3 in gastric cancer. *Mol Cancer.* 2010 Oct 12;9:269.
74. Masur K, Niggemann B, Zanker KS, Entschladen F. Norepinephrine-induced migration of SW 480 colon carcinoma cells is inhibited by beta-blockers. *Cancer Res.* 2001 Apr 1;61(7):2866-9.
75. Bastian P, Balcarek A, Altanis C, Strell C, Niggemann B, Zaenker KS, Entschladen F. The inhibitory effect of norepinephrine on the migration of ES-2 ovarian carcinoma cells involves a Rap1-dependent pathway. *Cancer Lett.* 2009 Feb 18;274(2):218-24.
76. Lang K, Drell TL 4th, Lindecke A, Niggemann B, Kaltschmidt C, Zaenker KS, Entschladen F. Induction of a metastatogenic tumor cell type by neurotransmitters and its pharmacological inhibition by established drugs. *Int J Cancer.* 2004 Nov 1;112(2):231-8.
77. Bastian P, Posch B, Lang K, Niggemann B, Zaenker KS, Hatt H, Entschladen F. Phosphatidylinositol 3-kinase in the G protein-coupled receptor-induced chemokinesis and chemotaxis of MDA-MB-468 breast carcinoma cells: a comparison with leukocytes. *Mol Cancer Res.* 2006 Jun;4(6):411-21.
78. Sloan EK, Capitanio JP, Cole SW. Stress-induced remodeling of lymphoid innervation. *Brain Behav Immun.* 2008 Jan;22(1):15-21.
79. Potthoff S, Entschladen F, Niggemann B, Zaenker KS, Lang K. N-cadherin engagement provides a dominant stop signal for the migration of MDA-MB-468 breast carcinoma cells. *Breast Cancer Res Treat.* 2007 Nov;105(3):287-95.
80. Chakroborty D, Sarkar C, Basu B, Dasgupta PS, Basu S. Catecholamines regulate tumor angiogenesis. *Cancer Res.* 2009 May 1;69(9):3727-30.

81. Lutgendorf SK, Cole S, Costanzo E, Bradley S, Coffin J, Jabbari S, Rainwater K, Ritchie JM, Yang M, Sood AK. Stress-related mediators stimulate vascular endothelial growth factor secretion by two ovarian cancer cell lines. *Clin Cancer Res*. 2003 Oct 1;9(12):4514-21.
82. Park SY, Kang JH, Jeong KJ, Lee J, Han JW, Choi WS, Kim YK, Kang J, Park CG, Lee HY. Norepinephrine induces VEGF expression and angiogenesis by a hypoxia-inducible factor-1 α protein-dependent mechanism. *Int J Cancer*. 2011 May 15;128(10):2306-16.
83. Nilsson MB, Armaiz-Pena G, Takahashi R, Lin YG, Trevino J, Li Y, Jennings N, Arevalo J, Lutgendorf SK, Gallick GE, Sanguino AM, Lopez-Berestein G, Cole SW, Sood AK. Stress hormones regulate interleukin-6 expression by human ovarian carcinoma cells through a Src-dependent mechanism. *J Biol Chem*. 2007 Oct 12;282(41):29919-26.
84. Belotti D, Paganoni P, Manenti L, Garofalo A, Marchini S, Taraboletti G, Giavazzi R. Matrix metalloproteinases (MMP9 and MMP2) induce the release of vascular endothelial growth factor (VEGF) by ovarian carcinoma cells: implications for ascites formation. *Cancer Res*. 2003 Sep 1;63(17):5224-9.
85. Hasegawa H, Saiki I. Psychosocial stress augments tumor development through beta-adrenergic activation in mice. *Jpn J Cancer Res*. 2002 Jul;93(7):729-35.
86. Hermes GL, Delgado B, Tretiakova M, Cavigelli SA, Krausz T, Conzen SD, McClintock MK. Social isolation dysregulates endocrine and behavioral stress while increasing malignant burden of spontaneous mammary tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Dec 29;106(52):22393-8.
87. Williams JB, Pang D, Delgado B, Kocherginsky M, Tretiakova M, Krausz T, Pan D, He J, McClintock MK, Conzen SD. A model of gene-environment interaction reveals altered mammary gland gene expression and increased tumor growth following social isolation. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2009 Oct;2(10):850-61.
88. Thaker PH, Han LY, Kamat AA, Arevalo JM, Takahashi R, Lu C, Jennings NB, Armaiz-Pena G, Bankson JA, Ravoori M, Merritt WM, Lin YG, Mangala LS, Kim TJ, Coleman

- RL, Landen CN, Li Y, Felix E, Sanguino AM, Newman RA, Lloyd M, Gershenson DM, Kundra V, Lopez-Berestein G, Lutgendorf SK, Cole SW, Sood AK. Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of ovarian carcinoma. *Nat Med*. 2006 Aug;12(8):939-44.
89. Sloan EK, Priceman SJ, Cox BF, Yu S, Pimentel MA, Tangkanangnukul V, Arevalo JM, Morizono K, Karanikolas BD, Wu L, Sood AK, Cole SW. The sympathetic nervous system induces a metastatic switch in primary breast cancer. *Cancer Res*. 2010 Sep 15;70(18):7042-52.
90. Lutgendorf SK, Lamkin DM, Jennings NB, Arevalo JM, Penedo F, DeGeest K, Langley RR, Lucci JA 3rd, Cole SW, Lubaroff DM, Sood AK. Biobehavioral influences on matrix metalloproteinase expression in ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2008 Nov 1;14(21):6839-46.
91. Lee JW, Shahzad MM, Lin YG, Armaiz-Pena G, Mangala LS, Han HD, Kim HS, Nam EJ, Jennings NB, Halder J, Nick AM, Stone RL, Lu C, Lutgendorf SK, Cole SW, Lokshin AE, Sood AK. Surgical stress promotes tumor growth in ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2009 Apr 15;15(8):2695-702.
92. Reiche EM, Nunes SO, Morimoto HK. Stress, depression, the immune system, and cancer. *Lancet Oncol*. 2004 Oct;5(10):617-25.
93. Kiecolt-Glaser JK, Robles TF, Heffner KL, Loving TJ, Glaser R. Psycho-oncology and cancer: psychoneuroimmunology and cancer. *Ann Oncol*. 2002;13 Suppl 4:165-9.
94. Elenkov IJ, Kvetnansky R, Hashimoto A, Bakalov VK, Link AA, Zachman K, Crane M, Jezova D, Rovinsky J, Dimitrov MA, Gold PW, Bonini S, Fleisher T, Chrousos GP, Wilder RL. Low- versus high-baseline epinephrine output shapes opposite innate cytokine profiles: presence of Lewis- and Fischer-like neurohormonal immune phenotypes in humans? *J Immunol*. 2008 Aug 1;181(3):1737-45.
95. Cohen M, Klein E, Kuten A, Fried G, Zinder O, Pollack S. Increased emotional distress in daughters of breast cancer patients is associated with decreased natural cytotoxic

activity, elevated levels of stress hormones and decreased secretion of Th1 cytokines. *Int J Cancer*. 2002 Jul 20;100(3):347-54.

96. Lutgendorf SK, Sood AK, Anderson B, McGinn S, Maiseri H, Dao M, Sorosky JI, De Geest K, Ritchie J, Lubaroff DM. Social support, psychological distress, and natural killer cell activity in ovarian cancer. *J Clin Oncol*. 2005 Oct 1;23(28):7105-13.

97. Inbar S, Neeman E, Avraham R, Benish M, Rosenne E, Ben-Eliyahu S. Do stress responses promote leukemia progression? An animal study suggesting a role for epinephrine and prostaglandin-E2 through reduced NK activity. *PLoS One*. 2011 Apr 29;6(4):e19246.

98. Saul AN, Oberyshyn TM, Daugherty C, Kusewitt D, Jones S, Jewell S, Malarkey WB, Lehman A, Lemeshow S, Dhabhar FS. Chronic stress and susceptibility to skin cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2005 Dec 7;97(23):1760-7.

99. Dhabhar FS, Saul AN, Daugherty C, Holmes TH, Bouley DM, Oberyshyn TM. Short-term stress enhances cellular immunity and increases early resistance to squamous cell carcinoma. *Brain Behav Immun*. 2010 Jan;24(1):127-37.

100. Benish M, Bartal I, Goldfarb Y, Levi B, Avraham R, Raz A, Ben-Eliyahu S. Perioperative use of beta-blockers and COX-2 inhibitors may improve immune competence and reduce the risk of tumor metastasis. *Ann Surg Oncol*. 2008 Jul;15(7):2042-52.

101. Ben-Eliyahu S. The promotion of tumor metastasis by surgery and stress: immunological basis and implications for psychoneuroimmunology. *Brain Behav Immun*. 2003 Feb;17 Suppl 1:S27-36.

102. Goldfarb Y, Sorski L, Benish M, Levi B, Melamed R, Ben-Eliyahu S. Improving postoperative immune status and resistance to cancer metastasis: a combined perioperative approach of immunostimulation and prevention of excessive surgical stress responses. *Ann Surg*. 2011 Apr;253(4):798-810.

103. Glasner A, Avraham R, Rosenne E, Benish M, Zmora O, Shemer S, Meiboom H, Ben-Eliyahu S. Improving survival rates in two models of spontaneous postoperative

metastasis in mice by combined administration of a beta-adrenergic antagonist and a cyclooxygenase-2 inhibitor. *J Immunol.* 2010 Mar 1;184(5):2449-57.

104. Lüthy IA, Bruzzone A, Piñero CP, Castillo LF, Chiesa IJ, Vázquez SM, Sarappa MG. Adrenoceptors: non conventional target for breast cancer? *Curr Med Chem.* 2009;16(15):1850-62.

105. Powe DG, Voss MJ, Habashy HO, Zänker KS, Green AR, Ellis IO, Entschladen F. Alpha- and beta-adrenergic receptor (AR) protein expression is associated with poor clinical outcome in breast cancer: an immunohistochemical study. *Breast Cancer Res Treat.* 2011 Nov;130(2):457-63.

106. Powe DG, Voss MJ, Zänker KS, Habashy HO, Green AR, Ellis IO, Entschladen F. Beta-blocker drug therapy reduces secondary cancer formation in breast cancer and improves cancer specific survival. *Oncotarget.* 2010 Nov;1(7):628-38.

107. Melhem-Bertrandt A, Chavez-Macgregor M, Lei X, Brown EN, Lee RT, Meric-Bernstam F, Sood AK, Conzen SD, Hortobagyi GN, Gonzalez-Angulo AM. Beta-blocker use is associated with improved relapse-free survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2011 Jul 1;29(19):2645-52.

108. Barron TI, Connolly RM, Sharp L, Bennett K, Visvanathan K. Beta blockers and breast cancer mortality: a population- based study. *J Clin Oncol.* 2011 Jul 1;29(19):2635-44.

109. Fryzek JP, Poulsen AH, Lipworth L, Pedersen L, Nørgaard M, McLaughlin JK, Friis S. A cohort study of antihypertensive medication use and breast cancer among Danish women. *Breast Cancer Res Treat.* 2006 Jun;97(3):231-6.

110. Ganz PA, Habel LA, Weltzien EK, Caan BJ, Cole SW. Examining the influence of beta blockers and ACE inhibitors on the risk for breast cancer recurrence: results from the LACE cohort. *Breast Cancer Res Treat.* 2011 Sep;129(2):549-56.

111. Perron L, Bairati I, Harel F, Meyer F. Antihypertensive drug use and the risk of prostate cancer (Canada). *Cancer Causes Control.* 2004 Aug;15(6):535-41.

112. Rodriguez C, Jacobs EJ, Deka A, Patel AV, Bain EB, Thun MJ, Calle EE. Use of blood-pressure-lowering medication and risk of prostate cancer in the Cancer Prevention Study II Nutrition Cohort. *Cancer Causes Control*. 2009 Jul;20(5):671-9.

ANEXO 1

Normas de publicação da revista ARQUIVOS DE MEDICINA

Normas de publicação da revista ARQUIVOS DE MEDICINA
Estas instruções seguem os “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals” (disponível em URL: www.icmje.org).

Os manuscritos são avaliados inicialmente por membros do corpo editorial e a publicação daqueles que forem considerados adequados fica dependente do parecer técnico de pelo menos dois revisores externos. A revisão é feita anonimamente, podendo os revisores propor, por escrito, alterações de conteúdo ou de forma ao(s) autor(es), condicionando a publicação do artigo à sua efetivação.

Todos os artigos solicitados serão submetidos a avaliação externa e seguirão o mesmo processo editorial dos artigos de investigação original.

Apesar dos editores e dos revisores desenvolverem os esforços necessários para assegurar a qualidade técnica e científica dos manuscritos publicados, a responsabilidade final do conteúdo das publicações é dos autores.

Todos os artigos publicados passam a ser propriedade dos ARQUIVOS DE MEDICINA. Uma vez aceites, os manuscritos não podem ser publicados numa forma semelhante noutros locais, em nenhuma língua, sem o consentimento dos ARQUIVOS DE MEDICINA.

Apenas serão avaliados manuscritos contendo material original que não estejam ainda publicados, na íntegra ou em parte (incluindo tabelas e figuras), e que não estejam a ser submetidos para publicação noutros locais. Esta restrição não se aplica a notas de imprensa ou a resumos publicados no âmbito de reuniões científicas. Quando existem publicações semelhantes à que é submetida ou quando existirem dúvidas relativamente ao cumprimento dos

critérios acima mencionados estas devem ser anexadas ao manuscrito em submissão.

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores têm que assegurar todas as autorizações necessárias para a publicação do material submetido.

De acordo com uma avaliação efetuada sobre o material apresentado à revista os editores dos ARQUIVOS DE MEDICINA prevêm publicar aproximadamente 30% dos manuscritos submetidos, sendo que cerca de 25% serão provavelmente rejeitados pelos editores no primeiro mês após a receção sem avaliação externa.

TIPOLOGIA DOS ARTIGOS PUBLICADOS NOS ARQUIVOS DE MEDICINA

Artigos de investigação original

Resultados de investigação original, qualitativa ou quantitativa. O texto deve ser limitado a 2000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 4 tabelas e/ou figuras (total) e até 15 referências. Todos os artigos de investigação original devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Publicações breves

Resultados preliminares ou achados novos podem ser objeto de publicações breves.

O texto deve ser limitado a 1000 palavras, excluindo referências e tabelas, e organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As publicações breves devem apresentar resumos estruturados em

português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Artigos de revisão

Artigos de revisão sobre temas das diferentes áreas da medicina e dirigidos aos profissionais de saúde, particularmente com impacto na sua prática.

Os ARQUIVOS DE MEDICINA publicam essencialmente artigos de revisão solicitados pelos editores. Contudo, também serão avaliados artigos de revisão submetidos sem solicitação prévia, preferencialmente revisões quantitativas (Meta-análise).

O texto deve ser limitado a 5000 palavras, excluindo referências e tabelas, e apresentar um máximo de 5 tabelas e/ou figuras (total). As revisões quantitativas devem ser organizadas em introdução, métodos, resultados e discussão.

As revisões devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada, devendo ser estruturados no caso das revisões quantitativas.

Comentários

Comentários, ensaios, análises críticas ou declarações de posição acerca de tópicos de interesse na área da saúde, designadamente políticas de saúde e educação médica.

O texto deve ser limitado a 900 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

Os comentários não devem apresentar resumos.

Casos clínicos

Os ARQUIVOS DE MEDICINA transcrevem casos publicamente apresentados trimestralmente pelos médicos do Hospital de S. João numa seleção acordada com o corpo editorial da revista. No entanto é bem vinda a

descrição de casos clínicos verdadeiramente exemplares, profundamente estudados e discutidos. O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

Os casos clínicos devem apresentar resumos não estruturados em português e em inglês, com um máximo de 120 palavras cada.

Séries de casos

Descrições de séries de casos, tanto numa perspetiva de tratamento estatístico como de reflexão sobre uma experiência particular de diagnóstico, tratamento ou prognóstico. O texto deve ser limitado a 1200 palavras, excluindo referências e tabelas, organizado em introdução, métodos, resultados e discussão, com um máximo de 2 tabelas e/ou figuras (total) e até 10 referências.

As séries de casos devem apresentar resumos estruturados em português e em inglês, com um máximo de 250 palavras cada.

Cartas ao editor

Comentários sucintos a artigos publicados nos ARQUIVOS DE MEDICINA ou relatando de forma muito objetiva os resultados de observação clínica ou investigação original que não justifiquem um tratamento mais elaborado.

O texto deve ser limitado a 400 palavras, excluindo referências e tabelas, e incluir no máximo uma tabela ou figura e até 5 referências.

As cartas ao editor não devem apresentar resumos.

Revisões de livros ou software

Revisões críticas de livros, software ou sítios da internet. O texto deve ser limitado a 600 palavras, sem tabelas nem figuras, com um máximo de 3 referências, incluindo a do objeto da revisão.

As revisões de livros ou software não devem apresentar resumos.

FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

A formatação dos artigos submetidos para publicação nos ARQUIVOS DE MEDICINA deve seguir os “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals”.

Todo o manuscrito, incluindo referências, tabelas e legendas de figuras, deve ser redigido a dois espaços, com letra a 11 pontos, e justificado à esquerda. Aconselha-se a utilização das letras Times, Times New Roman, Courier, Helvetica, Arial, e Symbol para caracteres especiais.

Devem ser numeradas todas as páginas, incluindo a página do título. Devem ser apresentadas margens com 2,5 cm em todo o manuscrito. Devem ser inseridas quebras de página entre cada secção.

Não devem ser inseridos cabeçalhos nem rodapés.

Deve ser evitada a utilização não técnica de termos estatísticos como aleatório, normal, significativo, correlação e amostra.

Apenas será efetuada a reprodução de citações, tabelas ou ilustrações de fontes sujeitas a direitos de autor com citação completa da fonte e com autorizações do detentor dos direitos de autor.

Unidades de medida

Devem ser utilizadas as unidades de medida do Sistema Internacional (SI), mas os editores podem solicitar a apresentação de outras unidades não pertencentes ao SI.

Abreviaturas

Devem ser evitados acrónimos e abreviaturas, especialmente no título e nos resumos. Quando for necessária a sua utilização devem ser definidos na primeira vez que são mencionados no texto e também nos resumos e em cada

tabela e figura, exceto no caso das unidades de medida.

Nomes de medicamentos

Deve ser utilizada a Designação Comum Internacional (DCI) de fármacos em vez de nomes comerciais de medicamentos.

Quando forem utilizadas marcas registadas na investigação, pode ser mencionado o nome do medicamento e o nome do laboratório entre parêntesis.

Página do título

Na primeira página do manuscrito deve constar:

- 1) o título (conciso e descritivo);
- 2) um título abreviado (com um máximo de 40 caracteres, incluindo espaços);
- 3) os nomes dos autores, incluindo o primeiro nome (não incluir graus académicos ou títulos honoríficos);
- 4) a filiação institucional de cada autor no momento em que o trabalho foi realizado;
- 5) o nome e contactos do autor que deverá receber a correspondência, incluindo endereço, telefone, fax e e-mail;
- 6) os agradecimentos, incluindo fontes de financiamento, bolsas de estudo e colaboradores que não cumpram critérios para autoria;
- 7) contagens de palavras separadamente para cada um dos resumos e para o texto principal (não incluindo referências, tabelas ou figuras).

Autoria

Como referido nos “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals”, a autoria requer uma contribuição substancial para:

- 1) conceção e desenho do estudo, ou obtenção dos dados, ou análise e interpretação dos dados;
- 2) redação do manuscrito ou revisão crítica do seu conteúdo intelectual;
- 3) aprovação final da versão submetida para publicação.

A obtenção de financiamento, a recolha de dados ou a supervisão geral do

grupo de trabalho, por si só, não justificam autoria.

É necessário especificar na carta de apresentação o contributo de cada autor para o trabalho. Esta informação será publicada.

Exemplo: José Silva concebeu o estudo e supervisionou todos os aspetos da sua implementação. António Silva colaborou na conceção do estudo e efetuou a análise dos dados. Manuel Silva efetuou a recolha de dados e colaborou na sua análise. Todos os autores contribuíram para a interpretação dos resultados e revisão dos rascunhos do manuscrito.

Nos manuscritos assinados por mais de 6 autores (3 autores no caso das cartas ao editor), tem que ser explicitada a razão de uma autoria tão alargada.

É necessária a aprovação de todos os autores, por escrito, de quaisquer modificações da autoria do artigo após a sua submissão.

Agradecimentos

Devem ser mencionados na secção de agradecimentos os colaboradores que contribuíram substancialmente para o trabalho mas que não cumpram os critérios para autoria, especificando o seu contributo, bem como as fontes de financiamento, incluindo bolsas de estudo.

Resumos

Os resumos de artigos de investigação original, publicações breves, revisões quantitativas e séries de casos devem ser estruturados (introdução, métodos, resultados e conclusões) e apresentar conteúdo semelhante ao do manuscrito.

Os resumos de manuscritos não estruturados (revisões não quantitativas e casos clínicos) também não devem ser estruturados.

Nos resumos não devem ser utilizadas referências e as abreviaturas devem ser limitadas ao mínimo.

Palavras-chave

Devem ser indicadas até seis palavras-chave, em português e em inglês, nas páginas dos resumos, preferencialmente em concordância com o Medical Subject Headings (MeSH) utilizado no Index Medicus. Nos manuscritos que não apresentam resumos as palavras-chave devem ser apresentadas no final do manuscrito.

Introdução

Deve mencionar os objetivos do trabalho e a justificação para a sua realização.

Nesta secção apenas devem ser efetuadas as referências indispensáveis para justificar os objetivos do estudo.

Métodos

Nesta secção devem descrever-se:

- 1) a amostra em estudo;
- 2) a localização do estudo no tempo e no espaço;
- 3) os métodos de recolha de dados;
- 4) análise dos dados.

As considerações éticas devem ser efetuadas no final desta secção.

Análise dos dados

Os métodos estatísticos devem ser descritos com o detalhe suficiente para que possa ser possível reproduzir os resultados apresentados.

Sempre que possível deve ser quantificada a imprecisão das estimativas apresentadas, designadamente através da apresentação de intervalos de confiança. Deve evitar-se uma utilização excessiva de testes de hipóteses, com o uso de valores de p, que não fornecem informação quantitativa importante.

Deve ser mencionado o software utilizado na análise dos dados.

Considerações éticas e consentimento informado

Os autores devem assegurar que todas as investigações envolvendo seres

humanos foram aprovadas por comissões de ética das instituições em que a investigação tenha sido desenvolvida, de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial (www.wma.net).

Na secção de métodos do manuscrito deve ser mencionada esta aprovação e a obtenção de consentimento informado, quando aplicável.

Resultados

Os resultados devem ser apresentados, no texto, tabelas e figuras, seguindo uma sequência lógica.

Não deve ser fornecida informação em duplicado no texto e nas tabelas ou figuras, bastando descrever as principais observações referidas nas tabelas ou figuras.

Independentemente da limitação do número de figuras propostos para cada tipo de artigo, só devem ser apresentados gráficos quando da sua utilização resultarem claros benefícios para a compreensão dos resultados.

Apresentação de dados numéricos

A precisão numérica utilizada na apresentação dos resultados não deve ser superior à permitida pelos instrumentos de avaliação.

Para variáveis quantitativas as medidas apresentadas não deverão ter mais do que uma casa decimal do que os dados brutos.

As proporções devem ser apresentadas com apenas uma casa decimal e no caso de amostras pequenas não devem ser apresentadas casas decimais.

Os valores de estatísticas teste, como t ou χ^2 , e os coeficientes de correlação devem ser apresentados com um máximo de duas casas decimais.

Os valores de p devem ser apresentados com um ou dois algarismos significativos e nunca na forma de $p=NS$, $p<0,05$ ou $p>0,05$, na medida em a informação contida no valor de P pode ser importante. Nos casos em que o valor de

p é muito pequeno (inferior a 0,0001), pode apresentar-se como $p<0,0001$.

Tabelas e figuras

As tabelas devem surgir após as referências. As figuras devem surgir após as tabelas.

Devem ser mencionadas no texto todas as tabelas e figuras, numeradas (numeração árabe separadamente para tabelas e figuras) de acordo com a ordem em que são discutidas no texto.

Cada tabela ou figura deve ser acompanhada de um título e notas explicativas (ex. definições de abreviaturas) de modo a serem compreendidas e interpretadas sem recurso ao texto do manuscrito.

Para as notas explicativas das tabelas ou figuras devem ser utilizados os seguintes símbolos, nesta mesma sequência: *, †, ‡, §, ||, ¶, **, ††, ‡‡.

Cada tabela ou figura deve ser apresentada em páginas separadas, juntamente com o título e as notas explicativas.

Nas tabelas devem ser utilizadas apenas linhas horizontais.

As figuras, incluindo gráficos, mapas, ilustrações, fotografias ou outros materiais devem ser criadas em computador ou produzidas profissionalmente.

As figuras devem incluir legendas. Os símbolos, setas ou letras devem contrastar com o fundo de fotografias ou ilustrações.

A dimensão das figuras é habitualmente reduzida à largura de uma coluna, pelo que as figuras e o texto que as acompanha devem ser facilmente legíveis após redução.

Na primeira submissão do manuscrito não devem ser enviados originais de fotografias, ilustrações ou outros materiais como películas de raios-X. As figuras, criadas em computador ou convertidas em formato eletrónico após digitalização devem ser inseridas no ficheiro do manuscrito.

Uma vez que a impressão final será a preto e branco ou em tons de

cinzento, os gráficos não deverão ter cores. Gráficos a três dimensões apenas serão aceites em situações excepcionais.

A resolução de imagens a preto e branco deve ser de pelo menos 1200 dpi e a de imagens com tons de cinzento ou a cores deve ser de pelo menos 300 dpi.

As legendas, símbolos, setas ou letras devem ser inseridas no ficheiro da imagem das fotografias ou ilustrações.

Os custos da publicação das figuras a cores serão suportados pelos autores.

Em caso de aceitação do manuscrito, serão solicitadas as figuras nos formatos mais adequados para a produção da revista.

Discussão

Na discussão não deve ser repetida detalhadamente a informação fornecida na secção dos resultados, mas devem ser discutidas as limitações do estudo, a relação dos resultados obtidos com o observado noutras investigações e devem ser evidenciados os aspetos inovadores do estudo e as conclusões que deles resultam.

É importante que as conclusões estejam de acordo com os objetivos do estudo, mas devem ser evitadas afirmações e conclusões que não sejam completamente apoiadas pelos resultados da investigação em causa.

Referências

As referências devem ser listadas após o texto principal, numeradas consecutivamente de acordo com a ordem da sua citação. Os números das referências devem ser apresentados entre parêntesis. Não deve ser utilizado software para numeração automática das referências. Pode ser encontrada nos "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" uma descrição pormenorizada do formato dos diferentes tipos de referências, de que se acrescentam alguns exemplos:

1. Artigo
 - Vega KJ, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increase risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.
 2. Artigo com Organização como Autor
 - The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing.safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 64:282-4.
 3. Artigo publicado em Volume com Suplemento
 - Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 1:275-82.
 4. Artigo publicado em Número com Suplemento
 - payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23 (1 Suppl 2):89-97.
 5. Livro
 - Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers;1996.
 6. Livro (Editor(s) como Autor(es))
 - Norman IJ, Redfern SJ, editores. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone;1996.
 7. Livro (Organização como Autor e Editor)
 - Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute;1992.
 8. Capítulo de Livro
 - Phillips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press;1995. p. 465-78.
 9. Artigo em Formato Eletrónico
 - Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1 (1): [24 screens]. Disponível em: URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>
- Devem ser utilizados os nomes abreviados das publicações, de acordo com o adotado pelo Index Medicus. Uma

lista de publicações pode ser obtida em <http://www.nlm.nih.gov>.

Deve ser evitada a citação de resumos e comunicações pessoais.

Os autores devem verificar se todas as referências estão de acordo com os documentos originais.

Anexos

Material muito extenso para a publicação com o manuscrito, designadamente tabelas muito extensas ou instrumentos de recolha de dados, poderá ser solicitado aos autores para que seja fornecido a pedido dos interessados.

Conflitos de interesse

Os autores de qualquer manuscrito submetido devem revelar no momento da submissão a existência de conflitos de interesse ou declarar a sua inexistência.

Essa informação será mantida confidencial durante a revisão do manuscrito pelos avaliadores externos e não influenciará a decisão editorial mas será publicada se o artigo for aceite.

Autorizações

Antes de submeter um manuscrito aos ARQUIVOS DE MEDICINA os autores devem ter em sua posse os seguintes documentos que poderão ser solicitados pelo corpo editorial:

- consentimento informado de cada participante;
- consentimento informado de cada indivíduo presente em fotografias, mesmo quando forem efetuadas tentativas de ocultar a respetiva identidade;
- transferência de direitos de autor de imagens ou ilustrações;
- autorizações para utilização de material previamente publicado;
- autorizações dos colaboradores mencionados na secção de agradecimentos.

SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS

Os manuscritos submetidos aos ARQUIVOS DE MEDICINA devem ser preparados de acordo com as recomendações acima indicadas e devem ser acompanhados de uma carta de apresentação.

Carta de apresentação

Deve incluir a seguinte informação:

- 1) Título completo do manuscrito;
- 2) Nomes dos autores com especificação do contributo de cada um para o manuscrito;
- 3) Justificação de um número elevado de autores, quando aplicável;
- 4) Tipo de artigo, de acordo com a classificação dos ARQUIVOS DE MEDICINA;
- 5) Fontes de financiamento, incluindo bolsas;
- 6) Revelação de conflitos de interesse ou declaração da sua ausência;
- 7) Declaração de que o manuscrito não foi ainda publicado, na íntegra ou em parte, e que nenhuma versão do manuscrito está a ser avaliada por outra revista;
- 8) Declaração de que todos os autores aprovaram a versão do manuscrito que está a ser submetida;
- 9) Assinatura de todos os autores.

É dada preferência à submissão dos manuscritos por e-mail (submit@arquivosdemedicina.org).

O manuscrito e a carta de apresentação devem, neste caso, ser enviados em ficheiros separados em formato word. Deve ser enviada por fax (225074374) uma cópia da carta de apresentação assinada por todos os autores.

Se não for possível efetuar a submissão por e-mail esta pode ser efetuada por correio para o seguinte endereço:

ARQUIVOS DE MEDICINA
Faculdade de Medicina do Porto
Alameda Prof. Hernâni Monteiro
4200 – 319 Porto, Portugal

Os manuscritos devem, então, ser submetidos em triplicado (1 original impresso apenas numa das páginas e 2

cópias com impressão frente e verso), acompanhados da carta de apresentação.

Os manuscritos rejeitados ou o material que os acompanha não serão devolvidos, exceto quando expressamente solicitado no momento da submissão.

CORRECÇÃO DOS MANUSCRITOS

A aceitação dos manuscritos relativamente aos quais forem solicitadas alterações fica condicionada à sua realização.

A versão corrigida do manuscrito deve ser enviada com as alterações sublinhadas para facilitar a sua verificação e deve ser acompanhada dum carta respondendo a cada um dos comentários efetuados.

Os manuscritos só poderão ser considerados aceites após confirmação das alterações solicitadas.

MANUSCRITOS ACEITES

Uma vez comunicada a aceitação dos manuscritos, deve ser enviada a sua versão final em ficheiro de Word®, formatada de acordo com as instruções acima indicadas.

No momento da aceitação os autores serão informados acerca do formato em que devem ser enviadas as figuras.

A revisão das provas deve ser efetuada e aprovada por todos os autores dentro de três dias úteis. Nesta fase apenas se aceitam modificações que decorram da correção de gralhas.

Deve ser enviada uma declaração de transferência de direitos de autor para os ARQUIVOS DE MEDICINA, assinada por todos os autores, juntamente com as provas corrigidas.